

Acetals and esters of 16alpha-hydroxyprednisolone and fluocinolone**Publication number:** DE4129535 (A1)**Publication date:** 1992-03-12**Inventor(s):** CALATAYUD JOSE [ES]; CONDE JOSE RAMON [ES]; LUNA MANUEL [ES] +**Applicant(s):** ELMU SA [ES] +**Classification:****- international:** A61K31/58; A61P29/00; C07J5/00; C07J71/00; A61K31/58; A61P29/00; C07J5/00; C07J71/00; (IPC1-7): A61K31/58; C07J71/00**- European:** C07J5/00C2C; C07J71/00B2B**Application number:** DE19914129535 19910905**Priority number(s):** US19900578942 19900907**Also published as:**

DE4129535 (C2)

GB2247680 (A)

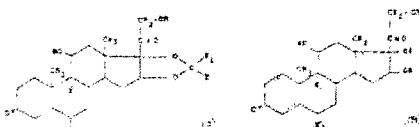
US5482934 (A)

PT98897 (A)

PT98897 (B)

[more >>](#)**Abstract not available for DE 4129535 (A1)****Abstract of corresponding document: GB 2247680 (A)**

Anti-inflammatory 16, 17-acetal-21 esters (A) and intermediate 16, 17, 21-triesters (B) are claimed. X₁ and X₂ are either both H or both F; R is acetyl or isobutanoyl; R₁ is 2-propyl, 1-butyl, 2-butyl, cyclohexyl, phenyl or benzyl, with the proviso R₁ is not 2-propyl when X₁=X₂=H. Acetals (A) may be insulated as (R)- or (S)-diastereoisomers or (RS)-mixtures, and are used as topical anti-inflammatories with low systemic activity.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide



⑯ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Patentschrift**
⑩ **DE 41 29 535 C 2**

⑮ Int. Cl.⁷:

C 07 J 71/00
A 61 K 31/58

DE 41 29 535 C 2

- ㉑ Aktenzeichen: P 41 29 535.8-43
- ㉒ Anmeldetag: 5. 9. 1991
- ㉓ Offenlegungstag: 12. 3. 1992
- ㉔ Veröffentlichungstag der Patenterteilung: 15. 3. 2001

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

㉓ Unionspriorität:

578942 07. 09. 1990 US

㉗ Erfinder:

Calatayud, Josè, Madrid, ES; Conde, José Ramón, Madrid, ES; Luna, Manuel, Madrid, ES

㉔ Patentinhaber:

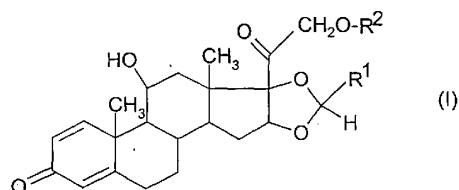
Byk Gulden Lomberg Chemische Fabrik GmbH,
78467 Konstanz, DE

㉕ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

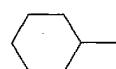
DE 36 40 709 A1
J. Amer. Chem. Soc. 82, 1960, S. 2318-2322;

㉖ Pregna-1,4-dien-3,20-dion-16-17-acetal-21-ester, Verfahren zur Herstellung, sowie diese enthaltende pharmazeutische Präparate

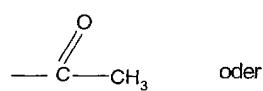
㉗ Pregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetal-21-ester der allgemeinen Formel I



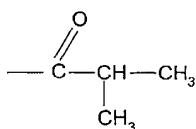
in Form einer Stereoisomerenmischung von R- und S-Epimeren bezogen auf die Orientierung der Substituenten am Kohlenstoffatom der Position 22, wobei R¹ für die Gruppe



und R² für die Gruppe



oder



steht.

DE 41 29 535 C 2

DE 41 29 535 C 2

Beschreibung

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung betrifft pharmakologisch aktive Verbindungen, ein Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen sowie diese enthaltende pharmazeutische Präparate. Die Erfindung beschreibt ebenso die Anwendung dieser Präparate in der Behandlung von Entzündungen.

Ein weiteres Ziel der Erfindung betrifft darüber hinaus die Herstellung bestimmter Glukokortikoide, die die Kombination einer höher anti-entzündlichen Aktivität im Anwendungsbereich und eine niedrigere systemische Glukokortikoidaktivität besitzen.

Seitdem Kendall und Reichaten die Wirksamkeit der Kortisone in der Behandlung von Gelenkrheumatismus entdeckt haben (wofür sie den Nobelpreis erhielten), gab es vielfache Bemühungen, die Grundstruktur zu ermitteln, die für die Glukokortikoidwirksamkeit ebenso wie für den Stoffwechsel und den Reaktionsmechanismus verantwortlich ist. Seit dieser Zeit sind zahlreiche, unterschiedliche synthetische Stoffe vorhanden, die das Aktivitätspotential des ersten identifizierten Produktes übertreffen.

Die klinische Wirksamkeit der Kortikosteroide führte zur Isolierung, Identifizierung und Synthese. Die Manipulation der Grundstrukturen erlaubte eine breite Vielfalt an synthetischen Analoga, in welchen die andauernde Suche nach größerer Wirksamkeit und die Zunahme des Verhältnisses therapeutische Wirksamkeit/nachteilige systemische Reaktion enthalten ist.

Der toxische Effekt konnte nicht vermieden werden, und es ist in diesem Zusammenhang wichtig festzustellen, daß die Kortikosteroide Produkte mit einer rein pharmakologischen Wirkung, aber auch mit einer ausgeprägten Akkumulationsfähigkeit in verschiedenen Geweben ausgestattet sind, die bis zum abrupten Ausbruch einer Katastrophe unbemerkt bleiben.

In allen untersuchten Produkten erscheinen die therapeutischen Effekte, die Effekte auf die Proteine und den Kohlenhydratstoffwechsel gleichzeitig, wodurch der Eindruck entsteht, daß die gesuchten Effekte und die nachteiligen Reaktionen von demselben Rezeptortyp vermittelt werden, und daß diese Rezeptoren identisch sind für alle Kortikosteroide.

Die Änderung der molekularen Struktur kann eine Vielzahl an biologischen Aktivitäten der Kortikosteroide verursachen. Dies hat Veränderungen in der Absorption, in der Proteinbindung, im Stoffwechsel, in der Absonderung, in der Bioverfügbarkeit und in der intrinsischen Aktivität in der Biophase zur Folge.

In den fünfziger Jahren setzte die Einführung der systemischen Kortikosteroide zur Behandlung von Asthma einen Meilenstein, der durch das Auftreten von Nebeneffekten überschattet wurde.

Diese Tatsache führte zu der Anwendung von Kortikosteroiden durch Inhalation, da angenommen wurde, daß die Reduzierung der Menge an Medikament, die zur Kontrolle der Symptome notwendig ist, es andererseits auch ermöglichen müßte, die Nebeneffekte zu reduzieren. Die ersten, in Aerosolform entwickelten Kortikosterooidpräparate wurden von einer veränderlichen Wirksamkeit und systemischen Nebeneffekten begleitet.

Das Auftreten von höher aktivierte Derivate erlaubte die Darstellung von lokalen Formulierungen, die eine höhere relative Aktivität kombiniert mit einer niedrigeren systemischen Wirkung besitzen. Zwei Gründe sind für dieses Verhalten verantwortlich:

1. Obwohl die Produkte lokal absorbiert werden können, metabolisieren sie sehr schnell zu den weniger aktiven Formen.

2. Die zu empfehlenden Dosierungen sind diejenigen, die keine systemischen Effekte produzieren, indem sie die Hypothalamo-Hirnanhangdrüse-Adrenal-Achse innerhalb des therapeutischen Anwendungsbereiches nicht unterdrücken.

Die Kortikosteroide, die in Aerosolform verabreicht werden, was einen höheren positiven Effekt zur Folge hat, sind Beclomethasondipropionate, Betamethasonvalerate, Budesonide, Flunisolide und Triamcinolonacetonde.

Die Philosophie, die versucht, die lokalen Effekte von den systemischen Effekten zu trennen, führte zu Untersuchungen an einer Serie von Kortikosteroiddervaten mit unterschiedlichen Lokalwirkungen und geringfügigen oder keinen systemischen Effekten.

Die Ziele dieser Reihe werden entscheidend durch die folgenden Faktoren beeinflußt:

- 50 a) Höhere Konzentration in der Biophase (Lungen- oder Hautoberflächenrezeptoren)
- b) Geringe lokale Absorption
- c) Geringe Gastrointestinalabsorption
- d) Ausgeprägte Empfindlichkeit gegenüber hepatischen Oxydasen und anderen Inhibitorenzymen
- e) Kurze Halbwertszeit
- f) Niedrige intrinsische oder systemische Aktivität

Ziel dieser Erfindung ist es, sich so dicht wie möglich einem Medikament anzunähern, das die gesamten, vorher genannten Eigenschaften enthält, um möglichst ein ideales lokales Kortikosterooid mit der Kenntnis zu produzieren, daß dieses therapeutische Agens trotz seiner Nachteile eine große Zukunft vor sich hat.

Ein Plan wurde aufgestellt, um bestimmte Kortikosteroiddervate zu entwickeln, in welchen eine intensive, lokale pharmakologische Aktivität mit keinen oder nur minimalen systemischen Effekten kombiniert ist.

In der Synthese von 16,17-Acetalen der Kortikosteroide wird eine Mischung von Epimeren hinsichtlich der Bildung eines neuen asymmetrischen Zentrums am C-22 erhalten. Die Trennung der beiden Epimere erfolgt durch Säulenchromatographie (LC) oder präparative HPLC-Techniken, die nur schwer in der Industrie anwendbar sind, aufgrund der begrenzten Produktmengen, die in dem jeweiligen Verfahren bearbeitet werden können. In dem hier vorliegenden Verfahren wird eines der Epimere, das (22 S)-Epimer (das aktivste Epimer) durch die hydrolytische Ketalisierung von Estern erhalten, die aus den C-16, C-17 und C-21 Hydroxylgruppen gebildet werden, in welchen aber die Ester am C-21 keine

DE 41 29 535 C 2

Hydrolyse eingehen. In Abhängigkeit vom ausgewählten Katalysator ist es möglich, entweder die Bildung einer Mischung von Epimeren (22 R,S)- oder die selektive Bildung des (22 S)-Epimers zu begünstigen. Ein Verfahren dieser Art wurde bisher nicht beschrieben. Die europäische Patentanmeldung 0 164 636 offenbart ein Verfahren der Transketalisierung von Acetoniden durch Umwandlung besagter Acetonide in Acetale in Gegenwart von Aldehyden und Fluor- oder Chlorwasserstoffsäure in einem wässrigen Medium. Grundsätzlich wird die Fluorwasserstoffsäure allgemein bei Temperaturen zwischen 0 und -30°C eingesetzt, wobei die Epimere aus den gebildeten Acetalen entstehen. Es wurde keine andere Entgegenhaltung gefunden, welche Selektivität gegenüber dem einen oder anderen Epimer beschreibt.

5

Das Verfahren, das Gegenstand dieser Erfindung ist, betrifft die Möglichkeit der Herstellung von (22 S)-Epimeren oder (22 R,S)-Mischungen von Acetalen vorher ausgewählter Triester, während das erwünschte Radikal an C-21 erhalten bleibt und wobei diese Ester leicht erhältlich sind. Das Verfahren wird bei Raumtemperatur unter Verwendung einer Lösung von trockener HCl in wasserfreien, organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Die Gewinnung des R-Epimers erfolgt, ausgehend von der (22 R,S)-Mischung, mittels preparativer HPLC-Chromatographie.

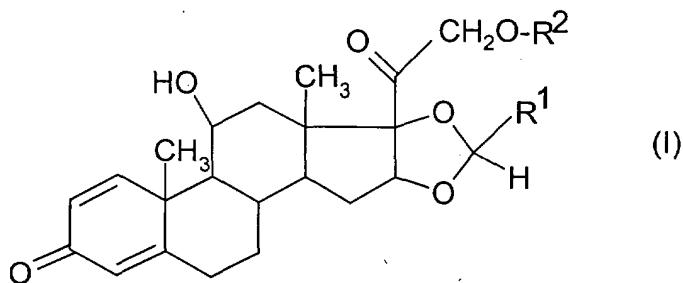
10

Die sterische Hinderung des eingeführten Acylradikals und ein spezifischer Katalysator erschweren die Bildung des (22 R)-Epimers. Wenn der gewählte Katalysator extrem aktiv ist, werden Mischungen dieser Isomere erhalten. Die charakteristische, sterische Hinderung ist verbunden mit einem Ansteigen der Reaktionszeit, die aber keine Verschlechterung der Bildung des Endproduktes durch Hydrolyse, Nebenreaktionen usw., unter den Bedingungen, unter denen das Verfahren stattfindet, verursacht. Das Verfahren verwendet keine korrosiven oder gefährlichen Reagenzien, beispielsweise Fluorwasserstoff, und auch keine extremen Temperaturen (unter 0°C), alles Merkmale, die für die Produktion in der Industrie nützlicher sind.

15

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der allgemeinen Formel I

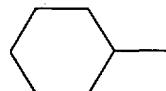
20



25

worin R1 für die Gruppe

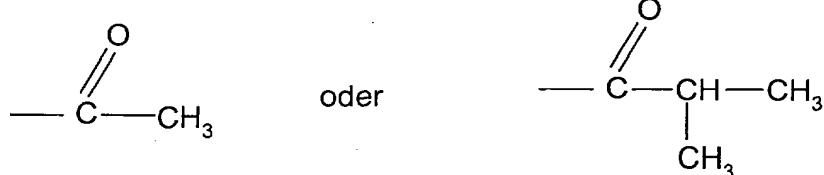
30



35

und R2 für die Gruppe

40



45

steht.

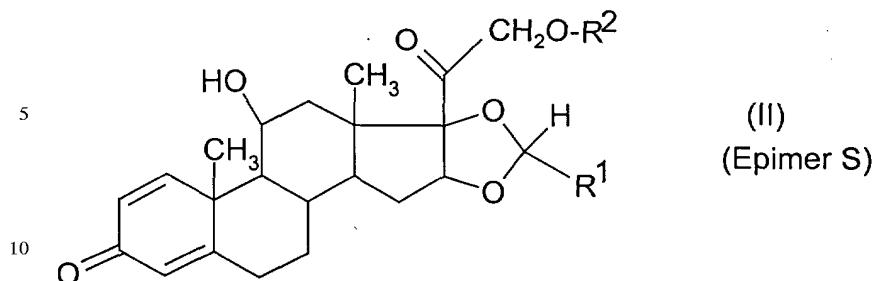
Jede dieser Verbindungen existiert in zwei diastereomeren Formen, welche folgendermaßen symbolisiert werden:

50

55

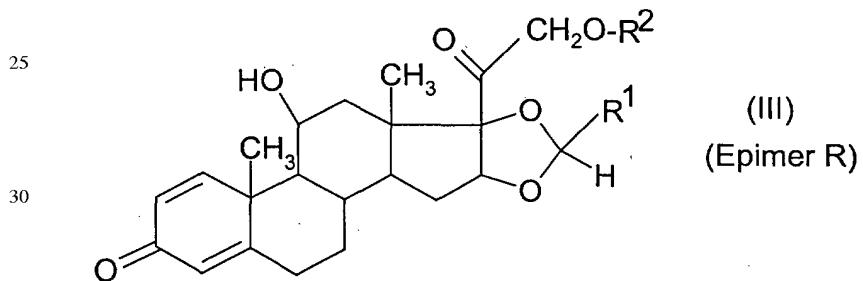
60

65



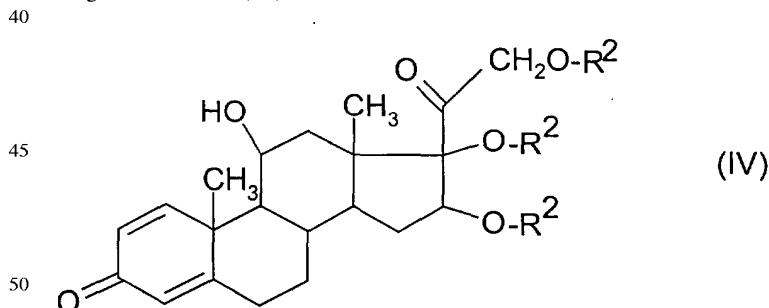
15

20



35 Die Diastereomere (II) und (III) unterscheiden sich in ihrer Konfiguration am C-22 (asymmetrischer Kohlenstoff). Diese Diastereomere werden als S- und R-Epimere bezeichnet.

Die Verbindungen dieser Erfindung werden durch hydrolytische Acetalisierung – mit einem geeigneten, adäquaten Katalysator, der jeweils eingesetzt wird – aus den am C-16, C-17 und C-21 veresterten Verbindungen hergestellt, die die folgende Struktur (IV) besitzen,



in welcher R² die oben angegebene Bedeutung hat.

Die Zwischenprodukte der Formel (IV) werden aus den entsprechenden hydroxylierten Derivaten durch Acylierung eines geeigneten Anhydrides im basischen Medium hergestellt. Diese Derivate entsprechen denen, deren Hydroxylgruppen an den Kohlenstoffatomen C-16, C-17 und C-21 verestert sind. Die Hydroxylgruppe an Kohlenstoff C-11 wird unter diesen Bedingungen nicht verestert, sondern eine Acylierung findet statt; nur mit bestimmten Anhydriden werden kleine Mengen um 1% produziert, die als Verunreinigung behandelt und als solche während der Reinigung entfernt werden. Wenn die Menge der vorliegenden Anhydride in der Reaktion kontrolliert wird, werden die Ester, die aus der Hydroxylgruppe am C-11 entstehen, nur in kleinen Mengen erhalten. Infolgedessen sollte die Molzahl der entsprechenden Anhydride den Faktor 25 in bezug auf die Molzahl der Kortikosteroide nicht übersteigen, so daß eine Acylierung an der C-11 Hydroxylgruppe nicht stattfinden oder nur eingeschränkt möglich sein kann, wie zuvor dargelegt wurde. Die Temperatur der Reaktion ist ein weiterer wichtiger Faktor und die idealen Bedingungen für die Acylierung der C-21, C-16 und C-17 Hydroxylgruppen sind Temperaturen im Bereich von 15–45°C. Oberhalb dieser Temperatur können größere Mengen an tetraacylierten Produkten entstehen.

Die Reaktionszeit sollte 4 h nicht übersteigen. Die bevorzugte Reaktionszeit für die meisten Kortikosteroide und Anhydride beträgt 1,5–2 h.

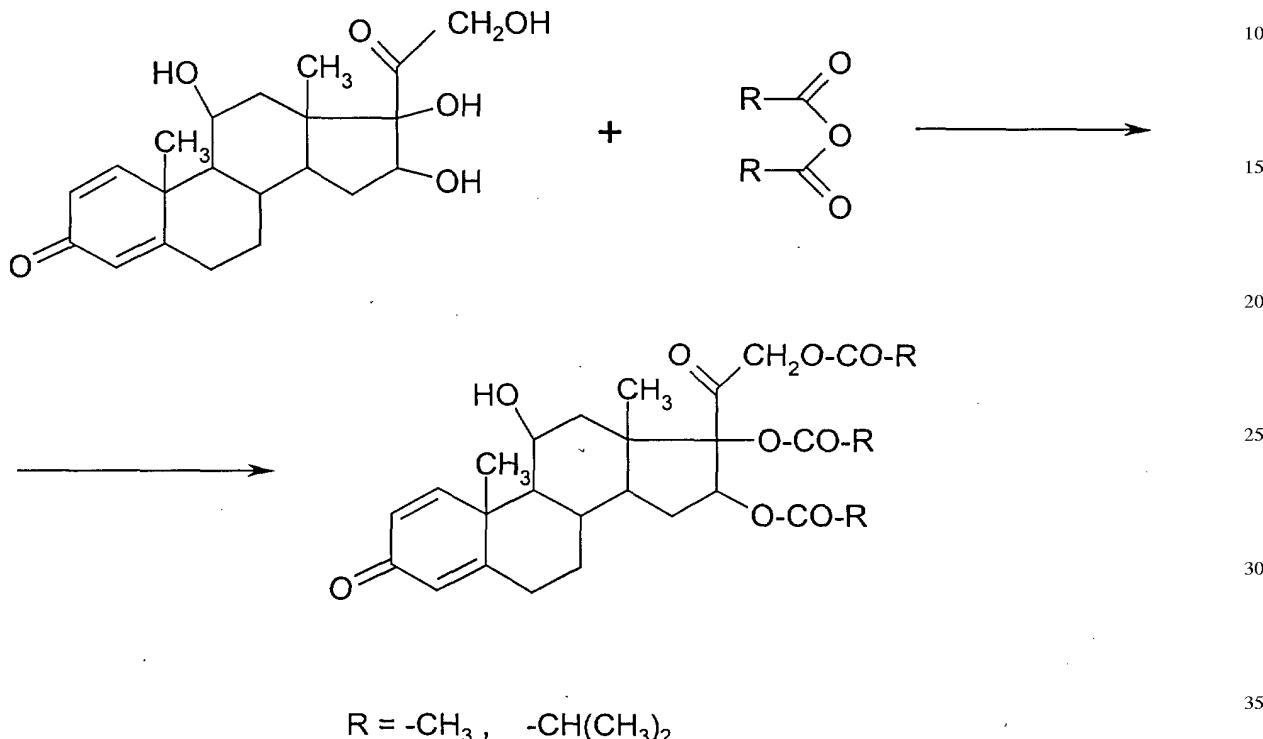
Pyridin, Dioxan oder DMSO sind als Lösungsmittel anderen möglichen Lösungsmitteln vorzuziehen, um so eine grö-

DE 41 29 535 C 2

Bere Löslichkeit zu erhalten, wobei insbesondere Pyridin aufgrund seines intrinsischen, basischen Charakters am besten geeignet ist.

Nach Ansäuern und Extrahieren mit organischen Lösungsmitteln, die nicht mit Wasser mischbar sind, wird die Reaktionsmischung konzentriert, gewaschen und umkristallisiert, um die entsprechenden Verbindungen zu erhalten, die an der C-16, C-17 und C-21 Hydroxylgruppe acyliert sind.

Reinigung durch die angewandte Wasch- und Umkristallisationsmethode liefert einen höheren Reinheitsgrad als 95%, der für den Einsatz als Zwischenprodukt im Verfahren zur Herstellung von Acetalen in bezug auf das dieser Erfindung zugrundeliegende Verfahren geeignet ist.

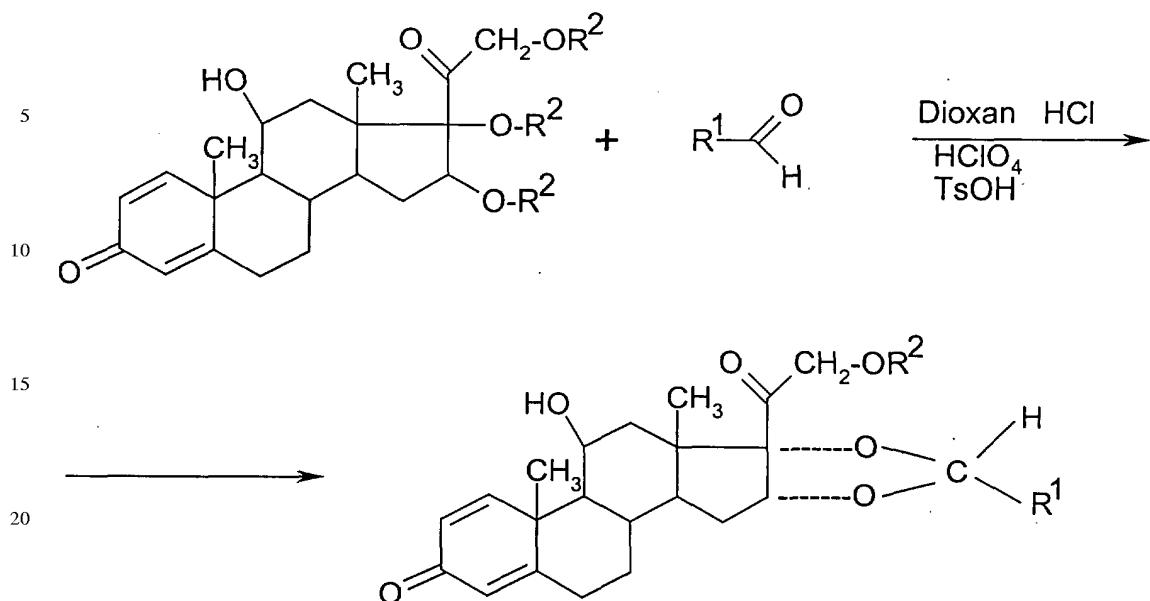


Die Verbindungen, dargestellt in den Formeln (I), (II) und (III) werden durch Hydrolyse der Ester an C-16 und C-17 mit Chlorwasserstoffsäure erhalten, die in einem Lösungsmittel gelöst ist, das als Mittel für die Reaktion im wasserfreien Medium verwendet und mit einem spezifischen Katalysator versetzt wird, um in der Acetalisierungsreaktion die Bildung von S-Epimer oder einer Mischung von R- und S-Epimeren in Gegenwart des entsprechenden Aldehyds zu bevorzugen.

Die Lösungsmittel, die im allgemeinen eingesetzt werden, sind: Dioxan, Methylenchlorid und Chloroform, alle wasserfrei. Dioxan wird jedoch am häufigsten für diesen Reaktionstyp verwendet. Die Auswahl des Lösungsmittels ist abhängig von der Menge des Epimers in der Mischung, da milde Katalysatoren die Reaktion auf die Produktion eines Epimers lenken, während aktiver Katalysatoren eine Mischung der einzelnen Isomere liefern, die sich dem Verhältnis von 1 : 1 annähert. Die Wahl des Lösungsmittels kann dieses Verhältnis leicht verändern. In bezug auf das charakteristische Epimerverhältnis, das erhalten werden soll, sind die verwendeten Katalysatoren p-Toluolsulfonsäure, die das S-Epimer als Hauptprodukt in einer Ausbeute von 98–99% liefert, sowie Perchlorsäure in einer 70%-igen Lösung in Eisessig, das eine Mischung beider R- und S-Epimere in einem Verhältnis von 40/60 ohne Unterscheidung liefert.

Wird die Reaktion ohne Katalysator durchgeführt, dann verlängert sich die Reaktionszeit erheblich und es ist deshalb unpraktisch, die Reaktion unter diesen Bedingungen auszuführen; darüberhinaus wird eine noch größere Menge an Verunreinigungen erhalten. In diesem Fall würde eines der Isomere, das S-Epimer, als Hauptbestandteil im Vergleich zum R-Epimer erhalten werden.

Die Reaktion wird an C-16 und C-17 Estern durch Hydrolyse in Gegenwart von Chlorwasserstoffsäure ausgeführt, mit nachfolgender Reaktion des Aldehyds in dieser Position, um das entsprechende Acetal zu bilden. Infolgedessen findet eine selektive Hydrolyse statt, da der Ester, der am C-21 gebildet wird, nicht unter den erwähnten Bedingungen hydrolysiert wird, so daß der Triester so ausgewählt werden sollte, daß das Radikal, welches von Interesse ist, am C-21 erhalten bleibt,



- 25 wobei R1 und R2 die oben angegebenen Bedeutungen haben.

Die Reaktion wird bei Raumtemperatur (10–20°C) durchgeführt, vorausgesetzt die Löslichkeit des eingesetzten Triesters erlaubt es. Temperaturen über 25°C aktivieren Nebenreaktionen und eine partielle Deacylierung des C-21.

Die Reaktionszeit fluktuiert zwischen 100 und 200 h, wobei sie von dem eingesetzten Kortikosteroid, von den acylierenden Agentien und den verwendeten Aldehyden abhängt, und es ist notwendig, ein Gleichgewicht zwischen der maximalen Bildung des Epimers oder der Mischung von Epimeren und den Nebenreaktionen, die eintreten können, zu erreichen.

Nachdem die überschüssige Säure neutralisiert worden ist, wird das hergestellte Rohprodukt mit Methylchlorid extrahiert und die organische Phase abgetrennt und danach unter Vakuum konzentriert. Das Produkt wird mit Ethylether/Petrolether endgültig gereinigt durch Behandlung in einer chromatographischen Säule mit Sephadex LH-20 oder LH-60 als stationäre Phase und einer Mischung von organischen Lösungsmittel, z. B. Heptan/Ethanol oder einer Mischung von organischen Lösungsmitteln und Wasser in Mengen, die im Bereich zwischen 90/10 und 98/2 für Heptan/Ethanol und 70/30 für Ethanol/Wasser als mobile Phase liegen können. Ebenso kann ein nachfolgendes Reinigungsverfahren Waschen oder Umfällungen mit Lösungsmitteln wie Methanol, Ethanol, Aceton, Dioxan, Ethylacetat, Wasser usw. beinhalten. Durch Verwendung eines dieser Lösungsmittel oder binäre oder ternäre Mischungen wie Dioxan/Wasser oder Ethanol/Aceton/Wasser in geeigneten Mengenverhältnissen wird ein Reinigungsgrad von 99,5–99,9% erhalten. So wurde im vorliegenden Fall ein Reinigungsverfahren mit einer ternären Mischung von Alkohol/Aceton/Wasser entwickelt, das durch Auflösen des Produkts in organischen Lösungsmitteln und nachfolgende Ausfällung durch Zugabe einer entsprechenden Menge an Wasser unter sehr spezifischen, kräftigen Rührbedingungen und einer sehr langsamem Zugabezeit neben anderen Faktoren einen Reinigungsgrad ausgehend von 85–90% bis 99,99% ergibt.

45 Eine Reinigung durch Säulenchromatographie ist für die industrielle Produktion nicht geeignet. Für diesen Verfahrenstyp gibt es geeignete, industrielle Feinreinigungsmethoden, die das Herstellungsverfahren dieses Typs von Verbindungen komplettieren.

In Abhängigkeit von dem Anwendungsbereich und dem Ziel, eine optimale Verwendbarkeit der aktiven Bestandteile zu erreichen, wurden verschiedene galenische Zusammensetzungen für die lokale Anwendung dieser Verbindungen in bezug auf diese Erfindung hergestellt.

Optimale Bedingungen für hautdurchlässige Formulierungen werden mit einem System von auf Glykol basierenden Lösungsmitteln (Propylenglykol und 1,3 Butandiol) allein oder in Kombination mit Wasser erreicht. Es ist ebenso möglich, die Steroide vollständig oder partiell in einer lipophilen Phase mit Hilfe eines oberflächenaktiven Stoffes als Lösungsvermittler zu lösen. Hautdurchlässige Zusammensetzungen kommen in Form von Salben, Öl-Wasser-Creme, Wasser-Öl-Creme oder Lotion vor. Das aktive Prinzip kann in den vorhergehenden pharmazeutischen Zusammensetzungen in Lösung, in gleichmäßig dispergierter Phase oder als mikronisierter Feststoff enthalten sein.

Das Aerosolsystem ist so entwickelt, daß jede eingesetzte Dosis 10–1000 µg (vorzugsweise 20–250 µg) des aktiven Steroids enthält. Die aktivsten Steroide werden im unteren Dosierungsbereich eingesetzt. Die mikronisierten Steroide müssen Partikel sein, die wesentlich kleiner als 5 µm sind. In dem unter Druck gesetzten Aerosol wird die Substanz in einem Treibmittelgasgemisch in Gegenwart eines Dispersionsmittels wie Sorbitantrioleat, Oleinsäure, Lecithin oder dem Natriumsalz der Octylsulfobbernsteinsäure suspendiert.

Die Erfindung wird weiterhin durch die folgenden, nicht einschränkenden Beispiele veranschaulicht. Die Molekulargewichte der entsprechenden Produkte wurden durch Massenspektren belegt und die Schmelzpunkte (unkorrigiert) mit einem Büchigerät gemessen. Die HPLC-Analysen wurden unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

65 Apparatur: Hewlett-Packard 1084 A

Detektor: UVD (243 Nanometer VX. 430 nm)

Säule: 200×4.6 nm

Stationäre Phase: Lichrosorp C18 (5 µm)

DE 41 29 535 C 2

Mobile Phase: Ethanol : Wasser (0.5 ml/min)
Temperatur: 35°C
Injektion: 5 µl Ethanol sol. zu 2 mg/ml

Synthese von triacylierten Derivaten an C-16, C-17 und C-21 (Tabelle I)

5

Beispiel 1

Herstellung von (11 β ,16 α)-11-Hydroxy-16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion

10

30 ml Pyridin und, 21,6 g Isobuttersäureanhydrid (äquivalent mit 0,13 mol) werden in ein 500 ml-Reaktionsgefäß gegeben, das mit einem mechanischen Rührwerk ausgestattet ist; unter kräftigem Rühren werden schrittweise 10 g (0,026 mol) Pregna-1,4-dien-3,20-dion-11,16,17,21-tetrahydroxy (11 β ,16 α) bei Raumtemperatur hinzugefügt. Die Kortikosteroidzusatzzeit dauert etwa 25–30 min. Nach Auflösung des besagten Kortikosteroide bei Raumtemperatur wird das Rühren in einem Zeitbereich von 1,5–2 h fortgesetzt, bis die Veresterung an den Hydroxylgruppen des C-21, C-16 und C-17 vollständig durchgeführt ist. Nach beendeter Reaktion werden 150 ml einer 10%-igen wässrigen Lösung von HCl hinzugefügt und das Rühren der Reaktionsmischung wird für weitere 30 min fortgesetzt; danach wird die besagte Mischung dreimal mit 88 ml Methylenchlorid behandelt, um den Triester zu extrahieren und die organische Phase wird dreimal mit jeweils 100 ml Wasser gewaschen, 12 h über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum am Rotationsverdampfer konzentriert, wobei ein Rohprodukt erhalten wird, welches mit 50 ml Ethylether und 200 ml Petrolether (40/60 Fraktion) behandelt wird. Das Rühren des erhaltenen Niederschlags wird 1 h fortgesetzt und schließlich wird das Produkt filtriert und aus Petrolether (40/60)/Ethylether 4/1 umkristallisiert, wobei eine Ausbeute von 13,3 g und ein Reinheitsgrad von 97,5–98% erhalten wird.

TLC: Toluol/Ethylacetat 30/40, Rf = 0,61.

15

20

25

Beispiel 2

Herstellung von (11 β ,16 α)-11-Hydroxy-16,17,21-tris-(acetoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion

30

In einem mit einer mechanischen Rührvorrichtung und einem Tropftrichter ausgestatteten Reaktionsgefäß von 500 ml werden 10 g (0,026 mol) Pregna-1,4-dien-3,20-dion-11,16,17,21-tetrahydroxy (11 β ,16 α) unter kräftigem Rühren in 30 ml Pyridin gelöst. 13,5 g (0,13 mol) Essigsäureanhydrid werden innerhalb von 10 min hinzugefügt und die Temperatur der Reaktionsmischung darf 20°C nicht übersteigen. Nach Zusatz des Essigsäureanhydrids wird noch 1 h weiter gerührt. (Das TLC oder HPLC einer Probe zeigt durch das Verschwinden des Ausgangskortikosteroide das Ende der Reaktion an.) Die Reaktionszeit sollte nach diesem Zeitpunkt nicht verlängert werden, um so eine Acylierung der C-11 Hydroxylgruppe zu verhindern. Nach vollständiger Reaktion werden 130 ml einer 10%-igen wässrigen Lösung von HCl hinzugefügt, um die gebildeten Triester zu extrahieren. Die Lösung des organischen Extraktes wird dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen und für 1–14 h mit wasserfreiem MgSO₄ versetzt, um die Lösung zu trocknen.

35

Durch Konzentration des organischen Extraktes bis zur Trockenheit wird ein Öl erhalten, welches mit Ethylether/Petrolether (40/60 Fraktion) 1/3 versetzt wird. Der erhaltene Niederschlag wird aus Methylenchlorid/Petrolether 1/4 umkristallisiert, wobei 12,5 g der Titelverbindung mit einem Reinigungsgrad von 98–98,5% erhalten wird.

40

Die Struktur und die entsprechenden spektroskopischen Eigenschaften der Verbindungen, deren Synthese in den oben genannten Beispielen beschrieben wurde, sind in Tabelle I dargestellt.

45

Darstellung von (22 R,S)- und (22 S)-Derivaten (Tabelle II)

45

Beispiel 3

Herstellung von [11 β ,16 α (R,S)]-16,17-[(Cyclohexylmethylen)bis-(oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion

50

55 ml wasserfreies Dioxan werden in ein 500 ml Reaktionsgefäß gegeben, welches mit einer mechanischen Rührvorrichtung und einem Tropftrichter ausgestattet ist und 8 g (0,014 mol) (11 β ,16 α)-11-Hydroxy-16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion werden in diesem gelöst; danach wird die Mischung 30 min gerührt und 45 ml Dioxan, welches 13% HCl-Gas enthält, werden langsam hinzugefügt und schließlich wird 1 ml 70%-ige Perchlorsäure in Eisessig (rötliche Färbung annehmend) tropfenweise hinzugefügt und man läßt 190 h röhren, dann wird 12 h auf 40°C erhitzt. Es kann abgeschätzt werden, ob die Reaktion vollständig abgelaufen ist, ohne daß noch restliches Reaktionsprodukt vorhanden ist, indem eine Probe durch HPLC unter den zuvor festgelegten Bedingungen analysiert wird.

55

Wenn der Triester in der Reaktionsmischung nicht mehr nachweisbar ist, gilt die Reaktion als beendet; 200 ml Methylenchlorid werden hinzugefügt, die Mischung wird mit 500 ml 5%-iger K₂CO₃ in wässriger Lösung behandelt, dann in einem separaten Gefäß kräftig gerührt und die organische Mischung dreimal mit jeweils 80 ml Wasser gewaschen. Nach Abdekantieren wird die organische Phase über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und bis zur Trockenheit am Rotationsdampfer konzentriert; ein Öl wird erhalten, das durch Behandlung mit 25 ml Methylenchlorid und 150 ml Petrolether (40/60 Fraktion) 8,52 g Rohprodukt ergibt, das entweder durch Umkristallisieren aus Ethylether/Petrolether oder durch Säulenchromatographie mit Sephadex LH-20 als stationäre Phase und ethanolfreiem Chloroform als mobile Phase gereinigt werden kann, wobei 8 g der Titelverbindung mit einem Reinigungsgrad von 98,5–99% und einem Epimererverhältnis von 45/55% bis 50/50% erhalten werden.

60

65

Die Mischung der Epimere wird durch präparative HPLC getrennt, wobei eine 7 µm Lichrosorp RP-18 Säule (250 ×

DE 41 29 535 C 2

10 mm i. d.) und Ethanol/Wasser als mobile Phase verwendet werden. Das so erhaltene (22 R)-Epimer ist praktisch rein und der Reinheitsgrad des (22 S)-Epimers ist größer als 99%.

Das Produkt, das die (22 R,S)-Mischung enthält, kann auch ohne Säulenchromatographie nach einer Methode gereinigt werden, die in den folgenden Beispielen beschrieben wird.

5

Beispiel 4

Herstellung von [11 β ,16 α (S)]16,17-[(Cyclohexylmethylen)-bis(oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion

10

55 ml wasserfreies Dioxan werden in ein 500 ml Reaktionsgefäß gegeben, und 8 g (0,014 mol) (11 β ,16 α)-11-Hydroxy-16,17,21-tris-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion und 4,3 g (0,038 mol) Cyclohexancarbaldehyd werden darin gelöst und danach werden 1 g p-Toluolsulfosäure und 50 ml Dioxan-HCl (enthält 13% HCl Gas), langsam innerhalb von 30 min zugegeben. Es wird 200 h gerührt und das Ende der Reaktion kann durch Analysieren der Mischung mit HPLC unter den schon genannten Methoden ermittelt werden. Nachdem das Acetal gebildet ist, werden 200 ml Cl₂CH₂ der Reaktionsmischung zugesetzt und mit 500 ml 5%-iger K₂CO₃ in wässriger Lösung versetzt, um die Säure zu entfernen. Danach wird das Produkt dreimal mit 80 ml Wasser gewaschen; die Lösung wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer zur vollständigen Trockenheit gebracht. Das erhaltene Öl wird mit 25 ml Cl₂CH₂ und 50 ml Petrolether (40/60 Fraktion) versetzt. Der gesammelte Feststoff, 5,3 g, wird durch die unten beschriebene Methode gereinigt.

20

5,2 g des Rohproduktes werden, gelöst in 300 ml 96%-igem Ethanol und 50 ml Aceton, in einen 500 ml Kolben, der mit einem kräftigen Rührer und einem Tropftrichter ausgestattet ist, gegeben. 80 ml Wasser werden unter langsamem Zutropfen und kräftigem Rühren hinzugefügt, so daß das Zutropfen nach 6 h beendet ist. Nach Zusatz des Wassers wird der gebildete Niederschlag 2 h gerührt, filtriert und mit Wasser gewaschen und das Produkt wird in einem auf 40°C erwärmten Ofen getrocknet, wobei 4,5 g der Titelverbindung mit einem Reinigungsgrad von mehr als 99% erhalten werden.

25

Diese Methode ist mit kleinen Änderungen auf die Reinigung der übrigen Verbindungen übertragbar und nicht auf die hier aufgezeigten Beispiele beschränkt. Es ist aber auch möglich, eine Säulenreinigung einzusetzen, wobei Sephadex LH-20 als stationäre Phase und ethanolfreies Chloroform als mobile Phase eingesetzt wird. Mit Hilfe dieser Reinigung wird zunächst eine sehr reine Fraktion des S-Epimer und eine zweite Fraktion erhalten, in welcher das Verhältnis von R- und S-Isomer im Bereich von 2/98% liegen kann.

Beispiele für pharmazeutische Präparate

35

Die folgenden und nicht einschränkenden Beispiele zeigen die Zusammensetzung verschiedener lokaler Verabreichungsformen. Die Menge an aktivem Steroid in hautdurchlässigen Formulierungen beträgt im allgemeinen 0,001–0,2% (w/w), vorzugsweise 0,01–0,1% (w/w).

Formulierung 1, Salbe

40

Steroid, mikronisiert	0.025 g
flüssiges Paraffin	15 g
weißes Paraffin a. d.	100.0 g

45

Formulierung 2, Salbe

50

Steroid	0.025 g
Propylenglykol	6.0 g
Arlucel 83 (Sorbitansesquioleat)	6.0 g
flüssiges Paraffin	15.0 g
weißes Paraffin a. d.	100.0 g

55

Formulierung 3, O/W Creme

60

Steroid	0.025 g
Cetylalkohol	7.0 g
Glycerylmonostearat	4.0 g
weiches Paraffin	15.0 g
Polyglykol 1500	3.0 g
Zitronensäure	0.1 g
Natriumcitrat	0.2 g
Propylenglycol	20.0 g
Wasser a. d.	100.0 g

DE 41 29 535 C 2

Formulierung 4, O/W Creme

Steroid, mikronisiert	0.025 g	
weiches Paraffin	20.0 g	
flüssiges Paraffin	5.0 g	5
Cetylalkohol	5.0 g	
Tween 65	3.0 g	
Span 60	1.0 g	
Zitronensäure	0.1 g	
Sorbinsäure	0.2 g	
Natriumcitrat	0.2 g	10
Wasser a. d.	100.0 g	

Formulierung 5, W/O Creme

Steroid	0.025 g	
weiches Paraffin	35.0 g	
flüssiges Paraffin	8.0 g	
Arlucel 83	5.0 g	20
Sorbinsäure	0.2 g	
Zitronensäure	0.1 g	
Natriumzitronensäure	0.2 g	
Wasser a. d.	100.0 g	25

Formulierung 6, Lotion

Steroid	0.025 g	
Isopropanol	50.0 g	30
Carbopol 940	0.5 g	
NaOH	q.s	
Wasser a. d.	100.0 g	

Formulierung 7, spritzfähige Suspension

Steroid, mikronisiert	0.05–10 mg	
Natriumcarboxymethylcellulose	7 mg	
NaCl	10 mg	40
Tween 80	0.5 mg	
Benzylalkohol	8 mg	
Wasser zum Injizieren	10 mg	

Formulierung 8, unter Druck gesetztes Aerosol für orale und nasale Inhalation

Steroid, mikronisiert	0.1% w/w	
Sorbitontrioleat	0.7% w/w	
Trichlorfluormethan	24.8% w/w	50
Dichlortetrafluormethan	24.8% w/w	
Dichlordifluormethan	49.6% w/w	

Formulierung 9, Lösung zum Versprühen

Steroid	7.0 mg	
Propylenglykol	5.0 g	
Wasser a. d.	10.0 g	60

Formulierung 10, Pulver zur Inhalation

Eine Kapsel, gefüllt mit einer Mischung aus		
Steroid, mikronisiert 0.1 g		65
Lactose 20 mg		
Das Pulver wird mittels eines geeigneten Gerätes inhaliert.		

DE 41 29 535 C 2

Pharmakologische Tests

Alle in dieser Erfindung beschriebenen Steroide, sind pharmakologisch aktive Verbindungen. Die Glukokortikoid-Aktivität dieser Produkte wurde im Vergleich zur Aktivität der Budesoniden untersucht: Pregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-5 butyridinbis-(oxy)-11-21-dihydroxy-(11 β ,16 α). Die pharmakologische Wirkung auf Acetonid-triamicilon-triacitonide und Flunisolide wurde ebenfalls untersucht.

Anti-Entzündungseffekte der Verbindungen wurden in dem Cellulose-Kapsel-Granulom Bioassay zur Kennzeichnung von Bleiverbindungen untersucht (Mei et al. Experimentia 6/469/1950). Männliche Wistar Ratten wurden verwendet, deren Gewicht in einem Bereich von 90–120 g lagen, mit einer Rate von 10 Tieren pro Gruppe, die vorher gekennzeichnet 10 und in einzelnen Käfigen gehalten wurden. Die Tiere hatten während des Versuches freien Zugang zu Futter und Wasser.

Cellulose-Kapseln, die exakt 20 mg wogen, wurden hergestellt, bei 160°C 2 h sterilisiert, mit 50 μ l Lösung des Produktes oder mit dem Lösungsmittel vor der Implantationen getränkt, und anschließend wurde das Lösungsmittel vor Anwendung verdampft. Die Implantation erfolgte subkutan in der Achselzone der Tiere, die vorher mit Ether anesthetisiert wurden (rechte Achselkapsel mit Produkt, linke Achselkapsel mit Lösungsmittel). Tiere mit implantierten Kapseln ohne 15 Produkt wurden zur Kontrolle verwendet.

Das Medikament wurde in einer Alkohollösung in vier Dosierungsstufen verabreicht. Nachdem die Kapseln implantiert waren, wurden die Tiere unter normalen Bedingungen gehalten, sieben Tage lang isoliert und dann gewogen. Anschließend wurden sie durch Ausbluten getötet.

Extrahieren und Wiegen des Thymus und der Nebennieren wurde an allen Tieren durchgeführt, und es fand eine fluorimetrische Bestimmung des Kortisolplasmaniveaus statt. Die Variation dieser Parameter wird als Indikativ für diese systemische Glukokortikoid-Aktivität der Produkte betrachtet.

Die lokale Aktivität wurde über den hemmenden Effekt auf das Gewicht des durch die Cellulose-Kapsel induzierten Granuloms bestimmt; die Granuloma wurden extrahiert und gewogen (die Kapsel und die sie umgebenden Gewebe wurden 24 h in einem 60°C heißen Ofen getrocknet und gewogen).

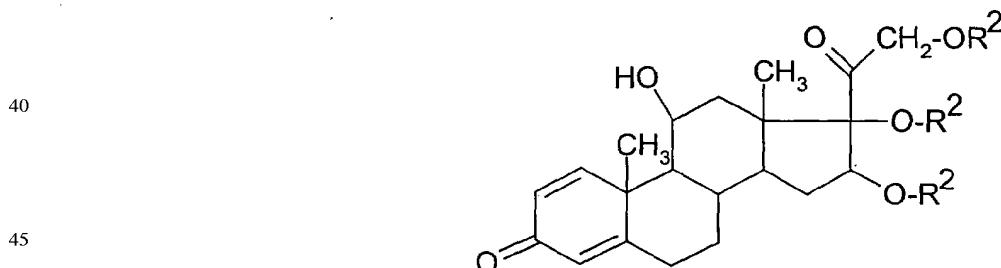
25 Ergebnisse sind in Tabelle III angegeben, nämlich:
Anti-endzündliche ED₅₀ (lokale Wirkung) Thymusinhibition ED₅₀ (systemischer Effekt), therapeutischer Index (systemische ED₅₀/lokale ED₅₀) und der therapeutische Index bezogen auf Budesonide (= 1).

Die gesamten ED₅₀-Werte wurden nach linearer Regression mit bestimmten Fehlergrenzen berechnet.

Die Produkte, die Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind, haben in den pharmakologischen Untersuchungen gezeigt, daß sie einen geringen systemischen Effekt in bezug auf den lokalen, pharmakologischen Aktivitätsbefund besitzen. Der Unterschied wird noch eindeutiger, wenn die Referenzprodukte Budesonide, Flunisolide und Triamcinolonacetone zum Vergleich herangezogen werden; eine effektive, lokale pharmakologische Aktivität und geringe systemische Glukokortikoid-Reaktionen wurden aufgezeigt.

35

Tabelle I

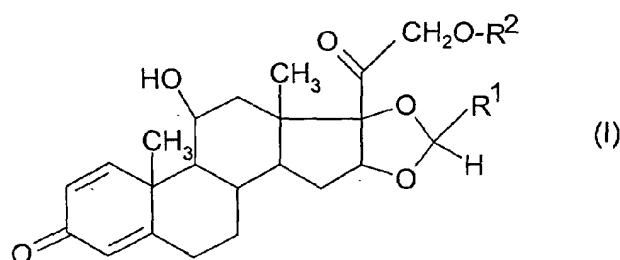


50

55 Verbin- dung	R²	IR	NMR
		(Ester) (cm ⁻¹)	δ (ppm)
59 1	-COCH(CH₃)CH₃	1720, 1270	1,17 (d) -1,00 (d) -0,98 (d)
60 2	-COCH₃	1740, 1228	2,05-1,96-1,94

65

Tabelle II



Verbindung	R^2	R^1	Epimere	Verhältnis		NMR * δ (ppm) 18-CH ³ **
				$R - S$	R	
3	-COCH(CH ₃)CH ₃		22-R+S	40-60%	60-40%	
4	-COCH(CH ₃)CH ₃		22-S	1- 0%	98-99%	0,96
5	-COCH(CH ₃)CH ₃		22-R	99,9%	0%	0,94

* = Lösung von 5% in Cl₃CD; ** = Ref. TMS

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

DE 41 29 535 C 2

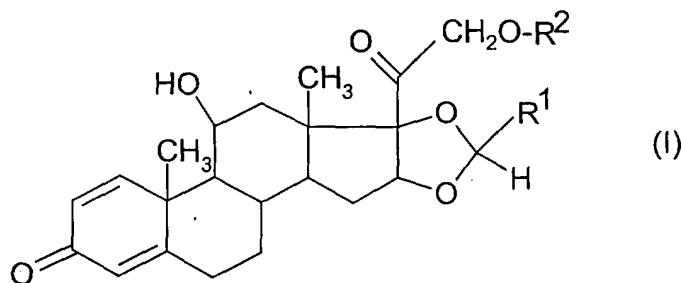
Tabelle III

Lokale pharmakologische Aktivität und systemische Glukokortikoideffekte, gekennzeichnet als ED₅₀ µg/Kapsel

	Verbindung	Epimer	Lokale Anti-Entzündungsaktivität (Cellulose-Kapseln)	Systemische Glukokortikoidaktivität (Thymusinhibition)	Therapeutischer Index Systemische ED₅₀/Lokale ED₅₀	Therapeutischer Index in Bezug auf Budesonide
5	7	22 R,S	21.7 (17-27.7)	614.7 (279.6-1351)	28.3	26
10	8	22 S	20.5 (16.9-25.6)	608 (359.3-1228.3)	29.6	27.2
15	9	22 R	25.4 (18.2-31.1)	667.1 (321.6-1489.2)	26.2	24.5
20	10	22 R,S	59.9 (59.3-60.3)	583.2 (236.2-1440)	9.7	8.9
25	11	22 S	43 (38.4-58)	555.3 (296.3-1387.3)	12.9	11.8
30	12	22 R	74.7 (85.3-65.1)	592.2 (265.1-1342.9)	7.9	7.2
35	13	22 R,S	4.5 (3.7-5.5)	54 (35-83.3)	12	11
40	14	22 S	3.6 (3-4.5)	49 (30.7-76.2)	13.6	15
45	15	22 R	5.2 (3.6-6)	56.3 (29.8-88.3)	10.8	9.9
50	BUDESONIDE	22 R,S	163.6 (125.1-213.9)	178.6 (81.3-392.6)	1.09	1
55	Triamcinolonacononide	22 R,S	220.7 (198.1-245.7)	156.4 (144.7-169)	0.7	0.6
60	FLUMISOLIDE	22 R,S	351.6 (268.8-459.9)	156 (188.3-224.8)	0.44	0.4

Patentansprüche

1. Pregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetal-21-ester der allgemeinen Formel I



in Form einer Stereoisomerenmischung von R- und S-Epimeren bezogen auf die Orientierung der Substituenten am Kohlenstoffatom der Position 22, wobei R¹ für die Gruppe



und R² für die Gruppe

DE 41 29 535 C 2



5

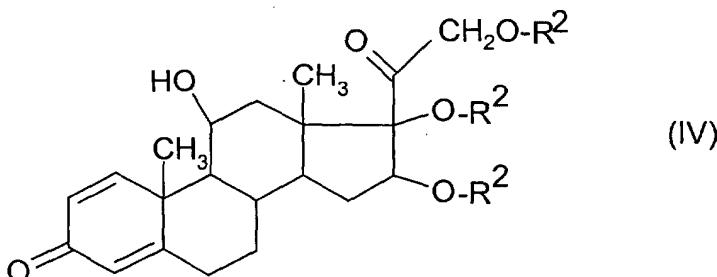
steht.

2. Verbindung nach Anspruch 1 in Form eines (22 S)-Epimers.
 3. Verbindung nach Anspruch 1 in Form eines (22 R)-Epimers.
 4. [11 β ,16 α (R,S)]-16,17-[(Cyclohexylmethylene)bis(oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion.
 5. [11 β ,16 α (R)]-16,17-[(Cyclohexylmethylene)bis(oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion.
 6. [11 β ,16 α (S)]-16,17-[(Cyclohexylmethylene)bis(oxy)]-11-hydroxy-21-(2-methyl-1-oxopropoxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion.
 7. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I, dadurch gekennzeichnet, dass man ausgehend von Verbindungen der allgemeinen Formel IV,

10

15

20

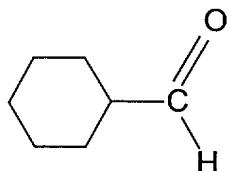


25

30

worin R2 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat, mit HCl-Gas in wasserfreiem Lösungsmittel die Estergruppen an C-16 und C-17 selektiv hydrolysiert und anschließend in der selben Reaktionsmischung die Hydrolyseprodukte der Verbindungen IV mit dem Aldehyd

35



40

jeweils an den Positionen C-16 und C-17 mit Perchlorsäure als Katalysator bei Raumtemperatur acetalisiert, wobei man ein Gemisch von (22-R)- und (22-S)-Epimeren erhält.

8. Pharmazeutische Präparate, enthaltend mindestens eine der Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1–6, zusammen mit geeigneten Hilfs- und Trägerstoffen. 45

45

50

55

60

65

- Leerseite -